云　南　植　物　研　究　2009，31 (2)：117～126
Acta Botanica Yunnanica　　DOI：10.3724 SP.J.1143.2009.08206

樟科润楠属植物 ITS 序列贝叶斯分析及其系统学意义

陈俊秋[1,2]，李　朗[1,2]，李　捷[1]，李锡文[3]
(1 中国科学院西双版纳热带植物园 植物系统与保护生物学实验室，云南 昆明　650223；2 中国科学院研究生院，北京　100049；3 中国科学院昆明植物研究所 标本馆，云南 昆明　650204)

摘要：应用 nrDNA Internal Transcribed Spacer (ITS) 序列，使用 Bayesian 分析法对樟科润楠属的系统学问题进行了初步探讨，结果表明润楠属在鳄梨属群中本身作为一独立分支，是一个自然的单系类群；由于其花被裂片果期宿存且强烈反转与同产自亚洲的楠属和油丹属存在清晰界线。本研究否定了前人依据花被片外面被毛情况及果实大小所建立的润楠属属下系统，但同时暗示着花序类型可能是解决润楠属下系统演化的关键性状。本研究对解决润楠属属内种间的系统演化关系尚有不足，建议今后补充更多的属内物种以及寻找新的分子标记进行更深入的研究。

关键词：樟科；润楠属；ITS；贝叶斯分析；系统发育
中图分类号：Q 949　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253-2700 (2009) 02-117-10

Bayesian Inference of nrDNA ITS Sequences from *Machilus* (Lauraceae) and Its Systematic Significance

CHEN Jun-Qiu[1,2]，LI Lang[1,2]，LI Jie[1**]，LI Hsi-Wen[3]
(1 *Laboratory of Plant Phylogenetics and Conservation Biology*，*Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650223，China；2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*，Beijing 100049，China；3 *Herbaium*，*Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China)

Abstract：The phylogeny of the genus *Machilus* was analysed by means of Bayesian Inference of nrDNA ITS sequences. Our results indicated that *Machilus* is a monophyletic clade within the *Persea* group，and its persistent and spreading to reflexed tepals on fruit are an important character for its generic delimitation against the related genera *Phoebe*，*Alseodaphne* and *Persea*. This study rejects the former infrageneric systematic arrangement of *Machilus* based on the pubescence type of tepals abaxially and the size of fruit，but suggests that the type of inflorescences may be valuable for the understanding of its infrageneric evolution. However，the species relationships within *Machilus* are poorly resolved. Samplings of additional taxa from *Machilus* and more powerful markers are needed in further study.

Key words：Lauraceae；*Machilus*；ITS；Bayesian inference；Phylogeny

润楠属 (*Machilus* Nees) 是樟科 (Lauraceae) 鳄梨属群 (*Persea* group) 的一个重要类群 (Rohwer 等，2009)。全世界约有 100 余种，分布于亚洲东南部和东部的热带、亚热带地区，我国有 83 种，其中 66 种为我国特有 (Li 等，2008)。

长期以来，有关润楠属的属级系统地位问题一直倍受争议。Kostermans (1957，1962，1990) 将润楠属置入鳄梨属内作为亚属 (*Persea* subg.

基金项目：国家自然科学基金 (30870170)，中科院植物园和生物分类学研究项目 (KSCX2-YW-Z-001) 和中国科学院知识创新工程青年人才领域前沿项目 (08LY021K01)
通讯作者：Author for correspondence；E-mail：jieli@xtbg.ac.cn
收稿日期：2008-11-18，2009-02-25 接受发表
作者简介：陈俊秋 (1983-) 女，在读硕士研究生，主要从事植物系统与保护生物学研究。

Machilus (Nees) Kosterm.)，这种处理被 Long (1984) 和 Chanderbali 等 (2001) 人所采纳。同样，润楠属和楠属 (*Phoebe* Nees) 在形态学特征上非常相似，区分也比较困难，其中个别的种类存在性状交叉现象 (韦发南和唐赛春，2006)，二者界线有待确定。近年来，由于得到越来越多形态学方面证据的支持，润楠属的属级地位已经得到了许多学者的肯定 (李树刚，1982；庄雪影，1997；初庆刚和胡正海，1999；韦发南等，2001；王玉国和韦发南，2003；符国瑷和洪小江，2004；韦发南和唐赛春，2006)；在分子系统学方面，Rohwer 等 (2009) 利用 nrDNA 中的 ITS 片段序列对樟科鳄梨属群进行的分子系统学研究表明，润楠属极有可能是一个单系类群。

依据《中国植物志》第 31 卷 (李树刚，1982) 的划分，润楠属属下系统分为 6 个组 (图 1)，花被裂片被毛状态及果实形状是该润楠属属下系统建立的重要分类特征。王玉国和韦发南 (2003) 在对润楠属和楠属开展花粉形态的比较研究中指出，在润楠属内各个组间的花粉粒大小差异较大，有些组间的划分难于找到对应明显的特征对其提供支持，并认为现有的润楠属内有些组级类群的划分仍然需要进一步开展深入研究提供更有力的证据加以明确。同样近期对樟科鳄梨属群开展的分子系统学研究 (Rohwer 等，2009) 对润楠属内的一些组或亚组的划分提出了质疑，并认为运用传统的形态特征并不能够有效地解决润楠属属级以下类群的界定，需要更充分的取样来进一步解决润楠属内各类群间的亲缘关系。

由于 nrDNA ITS 在已有的研究中表现出了较好的解决鳄梨属群系统发育问题的能力 (Chanderbali 等，2001；Rohwer 等，2009)，因此本研究采用直接测序方法，对采集到的润楠属及其鳄梨属群近缘属植物的核核糖体 ITS (包括 5.8S 编码区) 进行测序与分析，用 Bayesian 分析方法，对润楠属在鳄梨属群中的系统地位以及属下系统演化关系进行探讨。本研究将为进一步深入研究鳄梨属群内属间亲缘关系提供分子系统学证据。

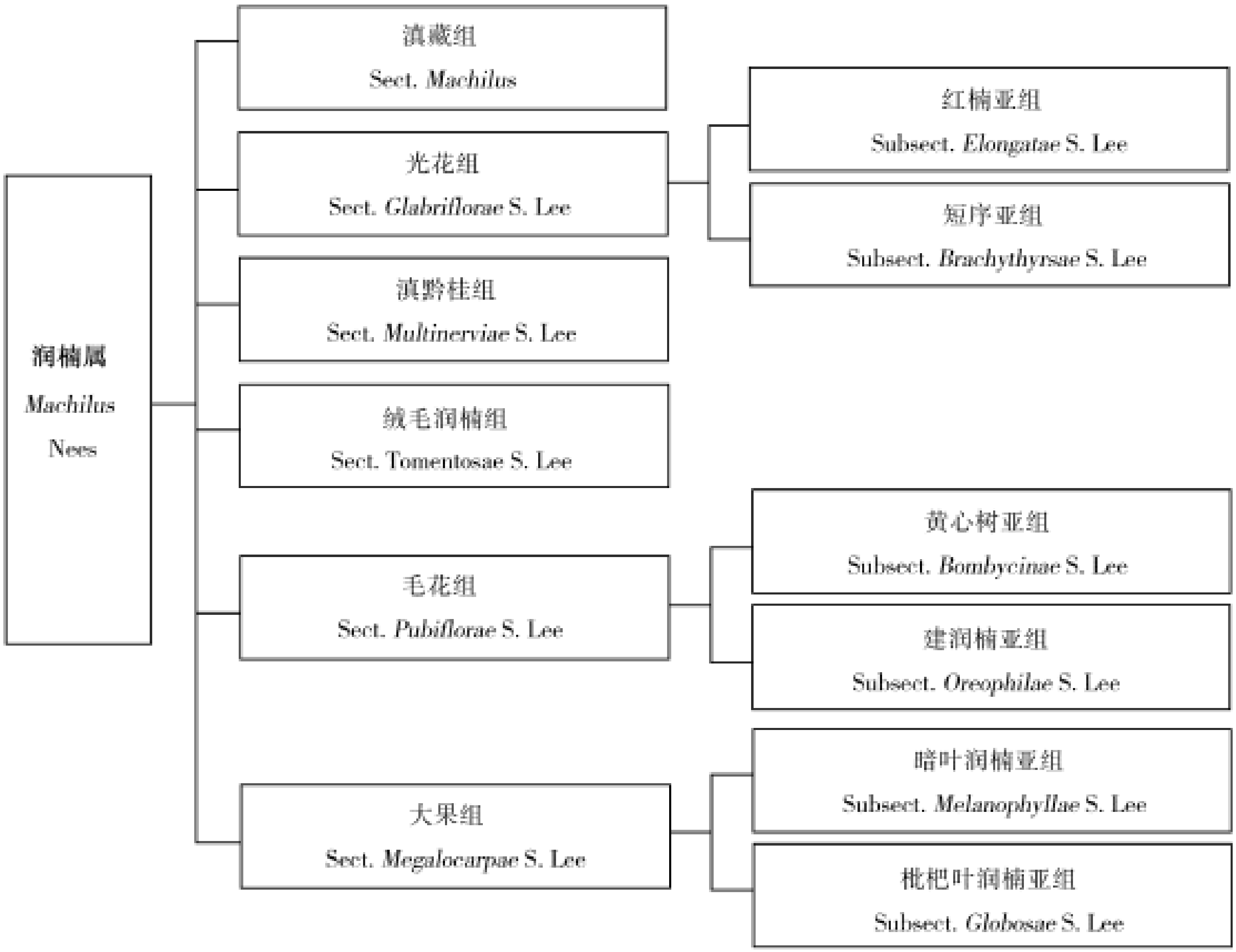

图 1 润楠属属下系统 (李树刚，1982)

Fig. 1 Infrageneric system of the genus *Machilus* by Lee (1982)

1　材料与方法

1.1　材料

用于提取 DNA 的材料为新鲜叶片，凭证标本藏于中国科学院西双版纳热带植物园标本馆（HITBC），详细情况见表 1。其中，部分种类的序列来源于 GenBank，并参照 Chanderbali 等（2001）的研究结果，选取 *Mezilaurus triunca* 和 *Sextonia pubescens* 作为鳄梨属群的外类群。

1.2　植物总 DNA 提取

将野外采集的嫩叶用硅胶快速干燥，参考 Doyle 和 Doyle (1987) 的总 DNA 提取方法，并加以改进，使用

表 1　实验材料来源和 ITS GenBank 序列号

Table 1　Origin of materials and the GenBank accession numbers of ITS sequences of *Machilus* and related taxa

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	产地 Source	序列号 GenBank Accession
内类群 Ingroups			
滇藏组 *Machilus* Sect. *Machilus*			
滇润楠 *Machilus yunnanensis* Lec.	Zhong J. S. (钟晋顺) 2006093 (HITBC)	中国云南昆明植物所 KIB, Yunnan, China	FJ755415
光花组 Sect. *Glabriflorae* S. Lee			
红楠亚组 Subsect. *Elongatae* S. Lee			
基脉润楠 *Machilus decursinervis* Chun	Li J. (李捷) 2002195 (HITBC)	中国广西 Guangxi, China	AY934893
凤凰润楠 *Machilus phoenicis* Dunn	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006009 (HITBC)	中国广东 Guangdong, China	FJ755413
狭叶润楠 *Machilus rehderi* Allen	Li J. (李捷) 2002193 (HITBC)	中国广西 Guangxi, China	FJ755427
红楠 *Machilus thunbergii* Sieb. et Zucc.	Li L. (李朗) 20070193 (HITBC)	中国浙江 Zhejiang, China	FJ755429
短序亚组 Subsect. *Brachythyrsae* S. Lee			
华蓥润楠 *Machilus salicoides* S. Lee	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006090 (HITBC)	中国广东华南植物园 SCBG, Guangdong, China	FJ755433
滇黔组 Sect. *Multinerviae* S. Lee			
贡山润楠 *Machilus gongshanensis* H. W. Li	Chen J. Q. (陈俊秋) 2007002 (HITBC)	中国云南昆明植物所 KIB, Yunnan, China	FJ755416
多脉润楠 *Machilus multinervia* Liou	Li J. (李捷) 2002162 (HITBC)	中国广西 Guangxi, China	FJ755417
绒毛组 Sect. *Tomentosae* S. Lee			
黄绒润楠 *Machilus grijsii* Hance	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006028 (HITBC)	中国广东 Guangdong, China	FJ755420
扁果润楠 *Machilus platycarpa* Chun	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006073 (HITBC)	中国广东华南植物园 SCBG, Guangdong, China	FJ755421
毛花组 Sect. *Pubiflorae* S. Lee			
黄心树亚组 Subsect. *Bombycinae* S. Lee			
黄心树 *Machilus bombycina* King ex Hook. f.	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006001 (HITBC)	中国广东 Guangdong, China	FJ755422
广东润楠 *Machilus kwangtungensis* Yang	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006027 (HITBC)	中国广东 Guangdong, China	FJ755424
薄叶润楠 *Machilus leptophylla* Hand. -Mazz.	Li L. (李朗) 20070190 (HITBC)	中国浙江 Zhejiang, China	FJ755430
长梗润楠 *Machilus longipedicellata* Lec.	Zhong J. S. (钟晋顺) 2006094 (HITBC)	中国云南昆明植物所 KIB, Yunnan, China	FJ755425
闵桂润楠 *Machilus minkweiensis* S. Lee	Li J. (李捷) 2002194 (HITBC)	中国广西 Guangxi, China	FJ755419
刨花润楠 *Machilus pauhoi* Kanehira	Li L. (李朗) 20070209 (HITBC)	中国浙江 Zhejiang, China	FJ755431
建润楠亚组 Subsect. *Oreophilae* S. Lee			
短序润楠 *Machilus breviflora* (Benth.) Hemsl.	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006013 (HITBC)	中国广东 Guangdong, China	FJ755434
建润楠 *Machilus oreophila* Hance	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2006067 (HITBC)	中国广东华南植物园 SCBG, Guangdong, China	FJ755423
柳叶润楠 *Machilus salicina* Hance	Chen J. Q. *et al*. (陈俊秋等) 2005001 (HITBC)	中国云南版纳植物园 XTBG, Yunnan, China	FJ755428

续表 1

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	产地 Source	序列号 GenBank Accession
大果组 Sect. *Megalocarpae* S. Lee			
枇杷叶润楠亚组 Subsect. *Globosae* S. Lee			
尖峰润楠 *Machilus monticola* S. Lee	Li L. (**李朗**) 20070323 (HITBC)	**中国海南** Hainan, China	FJ755418
梨润楠 *Machilus pomifera* (Kosterm.) S. Lee	Chen J. Q. *et al*. (**陈俊秋等**) 2006064 (HITBC)	**中国广东华南植物园** SCBG, Guangdong, China	FJ755432
粗壮润楠 *Machilus robusta* W. W. Sm.	Li J. (**李捷**) 2002116 (HITBC)	**中国广西** Guangxi, China	FJ755426
瑞丽润楠 *Machilus shweliensis* W. W. Sm.	Li J. (**李捷**) 2002087 (HITBC)	**中国广西** Guangxi, China	FJ755414
楠属楠组 *Phoebe* Sect. *Phoebe*			
披针叶楠 *Phoebe lanceolata* (Wall. ex Nees) Nees	Chen J. Q. *et al*. (**陈俊秋等**) 2006093 (HITBC)	**中国广东华南植物园** SCBG, Guangdong, China	FJ755410
楠属毛花组 Sect. *Caniflorae* Meissn.			
浙江楠 *Phoebe chekiangensis* C. B. Shang	Li J. (**李捷**) 2002175 (HITBC)	**中国广西** Guangxi, China	FJ755407
红毛山楠 *Phoebe hungmaoensis* S. Lee	Chen J. Q. *et al*. (**陈俊秋等**) 2006063 (HITBC)	**中国广东华南植物园** SCBG, Guangdong, China	FJ755442
大果楠 *Phoebe macrocarpa* C. Y. Wu	Li J. (**李捷**) 2002207 (HITBC)	**中国广西** Guangxi, China	FJ755408
滇楠 *Phoebe nanmu* (Oliv.) Gamble	Chen J. Q. *et al*. (**陈俊秋等**) 2005002 (HITBC)	**中国云南版纳植物园** XTBG, Yunnan, China	FJ755409
白楠 *Phoebe neurantha* (Hemsl.) Yang	Li J. (**李捷**) 2002213 (HITBC)	**中国广西** Guangxi, China	FJ755411
Phoebe cuneata (Blume) Blume	Arifiani 40 (MO)	**印度尼西亚** Indonesia	FJ755441
鳄梨亚属 *Persea* subg. *Persea*			
鳄梨 *Persea americana* Mill.	Li J. (**李捷**) 2002001 (HITBC)	**中国云南版纳植物园** XTBG, Yunnan, China	AF272322
鳄梨 *Eriodaphne* **亚属** *Persea* subg. *Eriodaphne* C. G. Nees			
Persea caerulea (Ruiz & Pav.) Mez	van der Werff 14744 (MO)	**秘鲁** Amazonas, Peru	FJ755436
Persea caerulea (Ruiz & Pav.) Mez[GB] (GB = from GenBank)	van der Werff 14744 (MO)	**秘鲁** Amazonas, Peru	AF272323
Persea lingue (Ruiz & Pav.) Nees	Greissl 640-99 (MJG)	**智利** Chile	AF272324
Persea meridensis L. E. Kopp	Cuello 943 (MO)	**委内瑞拉** Bocono, Trujillo, Venezuela	AF272325
Persea palustris (Raf.) Sarg.	J. Miller 9018 (MO)	**美国** U. S. A.	FJ755437
Persea sp.	van der Werff 19517 (MO)	**厄瓜多尔** Ecuador	FJ755435
毛叶油丹 *Alseodaphne andersonii* (King ex Hook. f.) Kosterm.	Li L. (**李朗**) 20070074 (HITBC)	**中国云南河口** Hekou, Yunnan, China	FJ755438
油丹 *Alseodaphne hainanensis* Merr.	Li L. (**李朗**) 20070317 (HITBC)	**中国海南** Hainan, China	FJ755440
长柄油丹 *Alseodaphne petiolaris* (Meissn.) Hook. f.	Li L. (**李朗**) 20070075 (HITBC)	**中国云南河口** Hekou, Yunnan, China	FJ755439
Alseodaphne semecarpifolia Nees	Malcomber 2753 (MO)	**斯里兰卡** Kandy, Central Prov., Sri Lanka	AF272252
赛楠 *Nothaphoebe cavaleriei* (Lévl.) Yang (= *Phoebe cavaleriei* (Levl.) van der Werff, nom. nud.)	Li L. (**李朗**) 20070260 (HITBC)	**中国四川** Sichuan, China	FJ755412
Nothaphoebe umbelliflora (Blume) Blume	Chen J. Q. (**陈俊秋**) 2007001 (HITBC)	**中国云南版纳植物园** XTBG, Yunnan, China	FJ719309
莲桂 *Dehaasia hainanensis* Kosterm.	Li L. (**李朗**) 20070373 (HITBC)	**中国海南** Hainan, China	FJ719308
外类群 Outgroups			
Mezilaurus triunca van der Werff	Vásquez 25227 (MO)	**秘鲁** Iquitos, Amazonas, Peru	AF272287
Sextonia pubescens van der Werff	Vásquez 25229 (MO)	**秘鲁** Iquitos, Loreto, Peru	AF268808

E.Z.N.A. Cycle-pure Kit (200) D6493-02 (OMEGA) 对得到的总 DNA 进行纯化，用 1%的琼脂糖电泳检测总 DNA 的质量和浓度。

1.3　ITS 片段的 PCR 扩增与产物纯化

ITS 全序列片段（含 5.8S 编码区）的扩增应用 White 等（1990）和 Chanderbali 等（2001）设计的引物 ITS4 和 ITSF 进行配对扩增，扩增反应在 ABI Gene Amp 9700™ PCR 仪上进行。对于一些总 DNA 模板质量较差，很难扩增出 ITS 全序列片段的样品，利用 ITSF ITS2 和 ITS3 ITS4 (White 等，1990；Chanderbali 等，2001）的引物组合，分两段扩增出 ITS 全序列片段。扩增反应程序为：94℃ 2 min；94℃ 1 min，39℃ 70 s，72℃ 1.5 min，35 个循环；72℃ 10 min。扩增产物用 E.Z.N.A. Cycle-pure Kit (200) D6493-02 (OMEGA) 纯化。

1.4　序列测定

本研究中的所有测序工作由上海生工生物工程技术服务有限公司和昆明明技科技有限公司完成。对得到的目的片段均使用其扩增引物进行双向测序，得到互补序列，以保证所得序列的准确性。

1.5　数据处理

联合从 GenBank 下载的序列，采用 Clustal X（Thompson 等，1997）对所测序列进行排序后，再使用 BioEdit (Hall，1999）对所得的结果进行人工校正，以形成最终的序列矩阵。使用 MrBayes 3.1（Huelsenbeck and Ronquist，2001）进行系统发育分析（Bayesian Inference，BI）。Bayesian 分析中用到的异质率（Rate Heterogeneity）和位点间变化率（Among-site Rate Variation）使用 Modeltest 3.06 (Posada and Crandall，1998）进行计算，应用 HLRT 检验（Hierachical Likelihood Ratio Tests）(Posada and Crandall，1998；Roalson and Friar，2004）计算碱基位点的变异频率和变异位点的比率，并最终确定 Bayesian 分析的最适模式为：TrN + I + G。Bayesian 分析起始于一棵随机进化树，然后对 4 个平行进化链进行 100 万代运算。马尔可夫链 (Markov chains）每 100 代取样一次，最终共获得 10 001 棵系统进化树。去掉最初的 1000 棵系统进化树作为“burn-in”(通过使用 Microsoft Office Excel 进行分析证实我们所选取的“burn-in”是足够长的)，然后利用 PAUP 4.0b10 软件（Swofford 等，2001）对剩下的 9001 棵系统进化树进行一致性分析（使用 50% majority rule)，得到 50%一致性系统进化树。Bayesian 系统树中，各个分支的支持率以后验率（posterior probability value）表示 (Huelsenbeck 等，2001)，大于 50%的后验率被标注在 50%一致性系统进化树上方。

2　结果

本研究一共获得了 46 个样品的 ITS 序列。润楠属 23 个物种的 ITS 序列长度为 554～556 bp，G + C 含量为 69.86%～70.99%；其他属物种的 ITS 序列长度为 510～561 bp，G + C 含量为 67.39%～74.53%。ITS 序列矩阵长度为 602 bp，具有 162 个变化位点（26.91%)，其中 91 个为信息位点 (15.12%)。图 2 显示 Bayesian 分析的系统进化树。

图 2 显示 *Mezilaurus triunca* 和 *Sextonia pubescens* 是分支图的基部类群，因此作为指定的外类群。所有鳄梨属群植物形成一个具 100%后验率支持的三歧分支，所有 23 个润楠属物种构成一个大的单系分支并得到 96%的后验率支持。在润楠属分支的内部，由 *Machilus minkweiensis* 和一个系统关系解决较差的多节点分支（86%的后验率）形成姐妹群。该多节点分支内部，除两个并列的亚分支外，其余五个物种均无法形成分支。其中，位于顶部的亚分支是由 *M. decursinervis* 和 *M. phoenicis* 形成的姐妹群分支（100%后验率)。第二个亚分支最大，位于底部，共包含 15 个物种，是一个系统演化关系解决较差的多节点分支，仅有 53%的后验率支持；其中，除未形成分支的 *Machilus grijisii* 和 *M. platycarpa* 外，有两个并列的分支，由上而下，第一个分支有 11 个物种（79%后验率)，是 *Machilus breviflora* 和另一个 10 个种的分支形成姐妹群；该分支中 *M. kwangtungensis*、*M. longipedicellata*、*M. robusta* 和 *M. pauhoi*、*M. leptophylla* 并列，且都未能形成分支，*M. rehderi*、*M. salicina* 与 *M. thunbergi* 形成的三岐分支（后验率为 99%）与由 *M. bombycina*、*M. oreophila* 形成的姐妹群（后验率为 83%）并列；第二个分支是 *M. pomifera* 和 *M. salicoides* 形成的姐妹群，得到了 99%的后验率支持。

在所有润楠属物种构成的单系分支上方，是由赛楠属、莲桂属、油丹属、鳄梨属、楠属的物种混合形成一个大的分支，仅得到 57%的后验率，由两个大小不等的亚分支构成。上方的一个较大（72%后验率)，其中：*Dehaasia hainanensis*、*Alseodaphne semecarpifolia* 形成的姐妹群 (58%后验率）和 *Nothaphoebe umbelliflora* 在一起构成一个小分支（100%的后验率支持)；*Phoebe cuneata*、*P. hungmaoensis* 构成一个姐妹群分支 (81%后验率)；*Nothaphoebe cavaleriei* 和其余的五个楠属物种构成一个分支，得到了 94%的后验

率支持。下方较小的亚分支中，*Alseodaphne andersonii* 和 *A. petiolaris* 形成一个姐妹群，并得到了100%的后验率支持，再与 *Persea americana* 和 *Alseodaphne hainanensis* 形成的姐妹群分支（后验

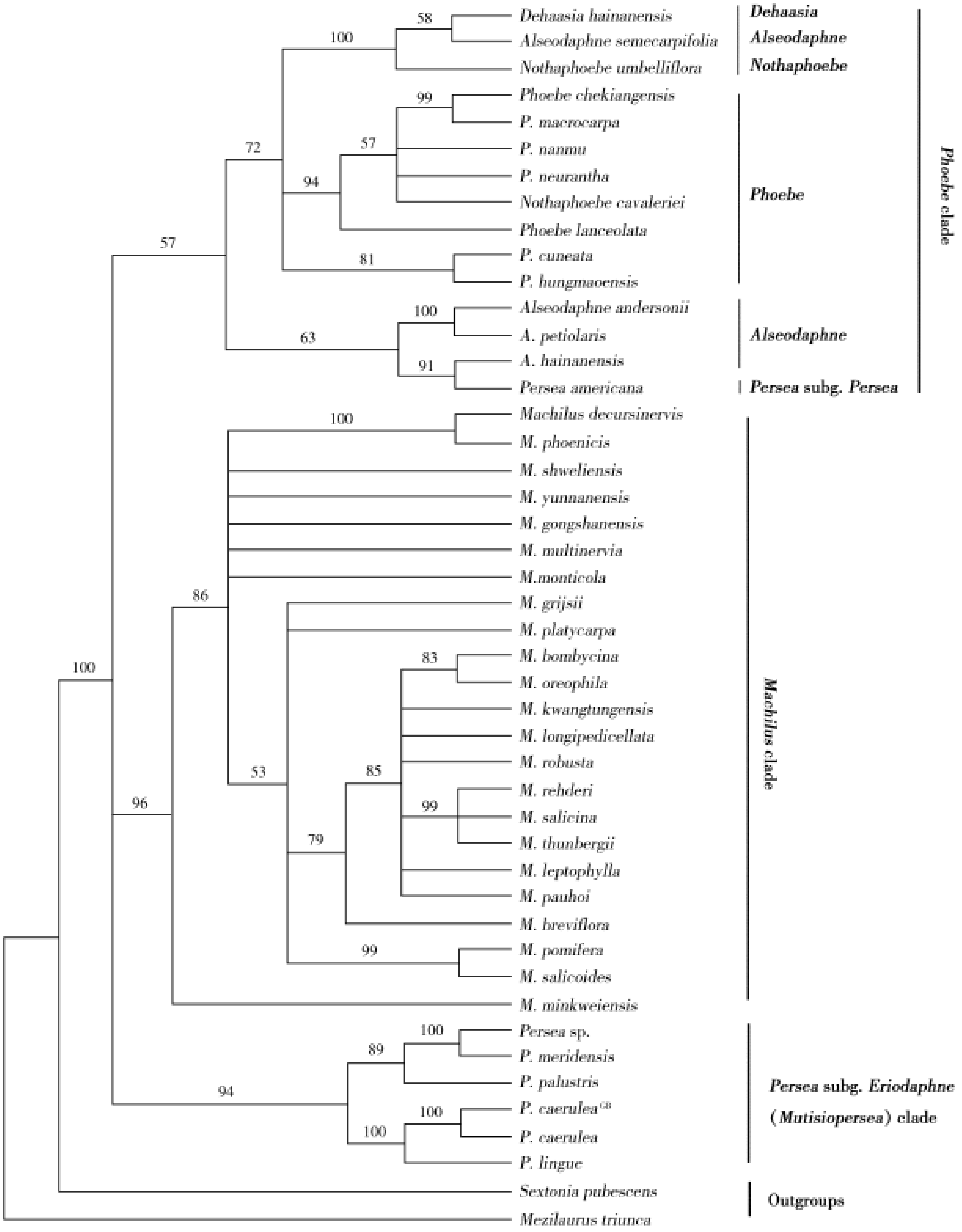

图2 从对ITS序列矩阵进行Bayesian分析得到的10001棵系统进化树中，取第1000棵以后的9001棵树，形成50%一致性系统进化树，大于50%的后验率标注在进化枝上面

Fig.2 Majority consensus of 9001 trees derived from the Bayesian inference of ITS sequences from the genus *Machilus*. Posterior probability values greater than 50% are shown above branches

率 91%）形成一个较大的姐妹群（后验率为 63%）。

在 *Machilus* 单系分支的下方，剩余的六个鳄梨亚属 *Persea* subg. *Eriodaphne* Nees 的成员形成了后验率为 94%的姐妹群分支，其内部有两个亚分支：*Persea* sp. 和 *P. meridensis* 形成的姐妹群（100%后验率）再与 *P. palustris* 形成一个具 89%后验率的姐妹群分支；*P. caerulea*[GB] 和 *P. caerulea* 形成了一个具 100%后验率的姐妹群，再与 *P. lingue* 形成一个后验率 100%的姐妹群分支。

3　讨论

3.1　确定樟科润楠属为单系类群

来自 nrDNA ITS 序列的 Bayesian 分析结果显示，鳄梨属群构成一单系分支，并得到 100%后验率的支持，但同时鳄梨属群包含有一个三歧分支，表明属群内的系统演化关系并没有得到很好地解决（图 2）。然而在这三歧分支中，由润楠属植物种类构成一后验率为 96%的单系分支，由此我们认为鳄梨属群内的润楠属为一个自然的单系类群。

近期，韦发南和唐赛春（2006）基于形态学特征讨论了润楠属与鳄梨属的分类界线，认为二者界线清晰，不宜合并。润楠属的花被裂片在果期宿存，极少脱落，如脱落则内、外轮全部从基部脱落，强烈反转，很少张开，多为伸长，外轮与内轮花被裂片相等或近相等，多为纸质，极少为薄革质；花柱早落；分布于亚洲热带及亚热带地区。而鳄梨属的花被裂片大多宿存，或内轮从基部的 1 3～1 2 处脱落，极少从基部脱落，紧贴、直立或近于张开，大多不伸长，花被裂片外轮明显比内轮短，常短于内轮的 1 2，革质到木质，很少为薄革质；花柱有时宿存；分布在美洲（Bentham and Hooker，1880，Kopp，1966；李树刚，1982；韦发南和唐赛春，2006）。因此，在早期发表的樟科系统学研究中（Kostermans，1957，1962，1973，1990；Long，1984），仅凭形态学特征的相似，将润楠属归入鳄梨属的处理方法显然是不妥当的，且造成了很大混乱。

3.2　润楠属在鳄梨属群中的系统地位

鳄梨属群内各属间的界线与系统演化关系一直存在有争议。在我们的研究结果中，鳄梨属群内润楠属的近缘类群都形成了两个大的分支，其中楠属分支系统演化关系解决不足：楠属、油丹属、赛楠属、莲桂属的所有成员及鳄梨属鳄梨亚属（*Persea* subg. *Persea*）的鳄梨（*Persea americana*）聚在一起，支持莲桂属、油丹属与楠属之间在形态特征上难以区分，亲缘关系密切，导致属间界线模糊的观点（van der Werff，2001）。值得注意的是油丹属、莲桂属、鳄梨属鳄梨亚属的花被裂片在果期脱落，赛楠属的花被裂片在果期宿存或脱落，若宿存也是极小不易察觉（Rohwer 等，2009），因此我们推测花被裂片在果期脱落或宿存但微小这一特征对于油丹属、莲桂属、鳄梨属鳄梨亚属、赛楠属具有较为重要的系统学价值，但鉴于这几个属的取样量不充足，有待研究。所有中南美热带的 *Persea* subg. *Eriodaphne* 的种类聚成了另一个分支，位于鳄梨属群分支的基部，且其内部形成了很好的两个小分支。这明显地表明鳄梨属是一多系类群，其中 *Persea* subg. *Eriodaphne* 为一单系类群，而这一类群 Kostermans 在 1993 年另立为一属即 *Mutisiopersea* Kostermans，它与 *Persea* subg. *Persea* 在鳄梨属群中的系统亲缘较远（Kostermans，1993）。

我们的结果还表明，虽然系统演化关系紧密，但是润楠属与近缘属之间的界线是清晰存在的，图 2 中润楠属的单系分支与其余两个大分支界线清晰，且与这两个大分支并列。形态学特征上，润楠属与其近缘属之间虽然有相似之处，但仍然存在明显差异，如润楠属和鳄梨属在内外轮花被裂片长度、果期的花被裂片形态和地理分布上差异明显；而同是亚洲分布的润楠属和楠属则在顶芽、花序着生方式、果实形态、内外轮花被裂片长度以及果期花被裂片形态等方面都存在差异（Kopp，1966；李树刚，1982；韦发南和唐赛春，2006）。我们认为花被裂片在果期宿存、不坚硬且强烈反转，以及果实多为卵球形或近球形，顶芽大且有鳞片是区分润楠属和近缘类群的形态学性状特征，其中果时的花被特征更是一个关键性状，具有更重要的系统学价值。

3.3　润楠属属内系统演化关系

本研究中的分子序列特征显示，润楠属内的 ITS 序列变化位点和信息位点较少，在所获得的系统发育树中（图 2），润楠属的单系分支内部，

有多个润楠属物种没有形成分支，系统演化关系解决不足。同时各组成员的分布比较混乱，分支结构与《中国植物志》第31卷（李树刚，1982）中对润楠属内各组的划分相矛盾。其中值得注意

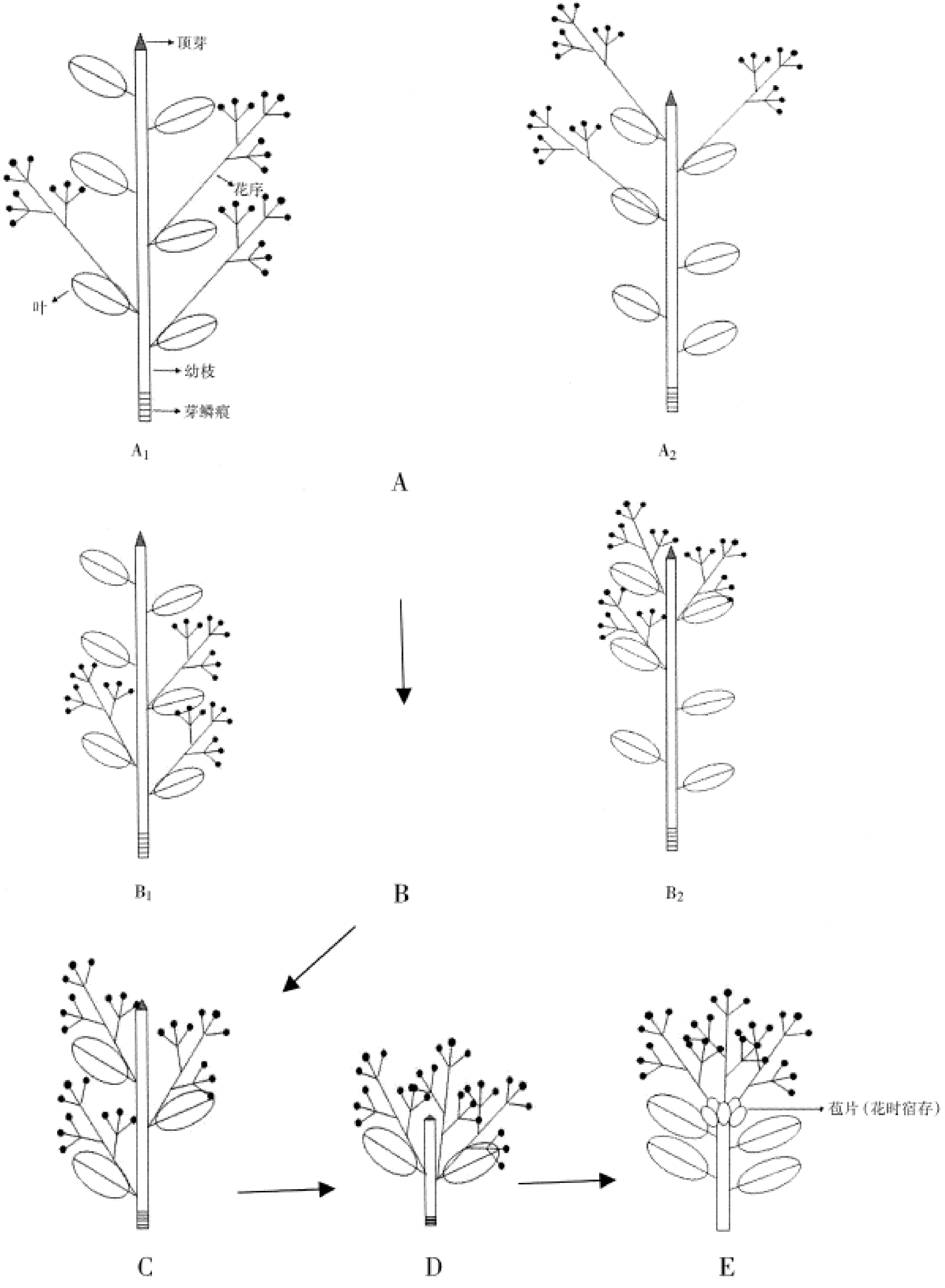

图3 润楠属花序适应性变异示意图

Fig. 3 Schematic map of adaptative variation (evolutionary trend) of inflorescences in the genus *Machilus*

的是来自毛花组的 *Machilus minkweiensis* 位于润楠属单系分支的基部，成为最原始的成员；而同组的 *M. bombycina* 和 *M. oreophila* 则形成了较特化的分支，因此我们推测由花被裂片被微柔毛、果实较小的特征定义的毛花组在系统发育上不是单系而是复系，即由来源于不同祖先的后代组成。

光花组的 *Machilus decursinervis* 和 *M. phoenicis* 形成一个姐妹群（100% 后验率），而同组的 *M. rehderi* 和 *M. thunbergii* 则和毛花组的 *M. salicina* 形成三岐分支，并且得到了 99%的后验率支持。因此我们推测依据花被裂片被毛与否而划分的组并不是自然类群。

同样，单型的滇藏组由于其椭圆形的果实与本属其余各种不同，形成了并列分支，但其它依据花被外面被毛与否以及球形果实大小而区分的各个多型组，如大果组的 *M. shweliensis* 和 *M. monticola*、滇黔桂组的 *M. gongshanensis* 和 *M. multinervia*，没有形成各自的独立分支，和 *M. yunnanensis* 等分支并列。所以我们认为，花被裂片被毛状态以及球形果实大小等这些特征虽然是很重要的分类特征，却不一定能具有系统发育的价值。取样最多的毛花组，除 *M. minkweiensis* 外，形成一个较特化的分支，但对亚组间的演化关系解决不足，表现为黄心树亚组的 *M. bombycina* 和建润楠亚组的 *M. oreophila* 聚成最进化的一支。

在形态学上润楠属属内各种的花序表现出一定的演化规律，如图 3 所示：A 型为长梗花序，A1 型的花序着生于幼枝下部（如 *M. minkweiensis*），A2 型的花序着生于幼枝上部（如 *M. cicatricosa*）；B 型为短梗花序，B1 型的花序着生于幼枝下部，B2 型的花序着生于幼枝上部（如 *M. obovatifolia*）；C 型幼枝缩短或不延伸，花序着生在幼枝上；D 型幼枝极缩短，花序数枚簇生（如 *M. salicoides*, *M. grijsii*）；E 型幼枝退化不发育，花序数枚簇生，其基部花时有多枚明显的苞片（如：*M. decursinervis* 和 *M. phoenicis*）。其中花序着生于枝条基部或下部的长梗型少分枝而十分伸长，基部无苞片的 A1 型为最原始，而基部具苞片的短梗型多分枝花序的 E 型可能最特化。这些花序类型的演化路线大致如图 3 所示。我们推测，其属下系统发育可能与圆锥花序着生部位，其下花时是否具苞片，花序短小或伸长，其分枝部位（即具长梗或短梗）等密切相关，也就是说可能是与花序类型密切相关。

总之，我们认为 ITS 序列在解决润楠属属内种间的系统演化关系上虽有不足，但润楠属属内系统演化关系是一个值得深入探讨的问题，在今后研究中应注重不同花序型的更多取样，探讨花序特征在润楠属属内系统演化关系上的作用，对于整个鳄梨属群的深入研究也有着重要意义。

致谢　本研究承蒙中科院华南植物园和美国密苏里植物园 Henk van der Werff 博士在样品采集时提供了大量帮助，夏永梅、陶国达老师和钟晋顺同学协助了野外采集工作。

〔参　考　文　献〕

Bentham G, Hooker JD, 1880 . Genera Plantarum [M] . London: Lovell Reeve & Co, 3: 156

Chanderbali AS, van der Werff H, Renner SS, 2001 . Phylogeny and historical biogeography of Lauraceae: evidence from the chloroplast and nuclear genomes [J] . *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88: 104—134

Chu QG (初庆刚), Hu ZH (胡正海), 1999 . Comparative anatomy of oil cells and mucilage cells in the leaves of the Lauraceae in China [J] . *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), 37 (6): 529—540

Doyle JJ, Doyle JL, 1987 . A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J] . *Phytochemical Bulletin*, 19: 11—15

Fu GA (符国瑷), Hong XJ (洪小江), 2004 . A new species of *Machilus* (Lauraceae) from Hainan Island [J] . *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 24 (3): 259—260

Hall TA, 1999 . BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95 98 NT [J] . *Nuclear Acids Symbol Series*, 41: 95—98

Huelsenbeck JP, Ronquist F, 2001 . MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees [J] . *Bioinformatics*, 17: 754—755

Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R *et al.*, 2001 . Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology [J] . *Science*, 294: 2310—2314

Kopp L, 1966 . A taxonomic revision of the genus *Persea* in the western hemisphere (Perseae-Lauraceae) [J] . *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 14: 1—120

Kostermans AJGH, 1957 . Lauraceae [J] . *Communication Pengumuman of the Forest Research Institute*, 57: 1—64

Kostermans AJGH, 1962 . The Asiatic species of *Persea* Mill . [J] . *Reinwardtia*, 6: 189—194

Kostermans AJGH, 1973 . A synopsis of *Alseodaphne* Nees Lauraceae [J] . *Candollea*, 28: 93—136

Kostermans AJGH, 1990. Additional transfers of Asiatic *Machilus* sensu Nees, non Desrousseaux, to *Persea* Mill. (Lauraceae) [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 77: 545—548

Kostermans AJGH, 1993. *Mutisiopersea* Kostermans, a new genus in Lauraceae [J]. *Rheedia*, 3: 132—135

Lee SK (**李树刚**), 1982. Machilus Nees [A]. In: Li HW (**李锡文**) (ed.). Flora Reipublicae Popularis Sinicae (**中国植物志**) [M]. Beijing: Science Press, 31: 7—68

Li HW, Li J, Huang PH *et al.*, 2008. Lauraceae [A]. In: Wu ZY, Raven PH, Hong DY (eds.). Flora of China Volume 7 [M]. Beijing: Science Press, and St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 102—254

Long DG, 1984. Notes relating to the flora of Bhutan: VIII Lauraceae [J]. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh*, 41: 518—525

Posada D, Crandall KA, 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution [J]. *Bioinformatics*, 14: 817—818

Roalson EH, Friar EA, 2004. Phylogenetic relationships and biogeographic patterns in North American members of *Carex* section *Acrocystis* (Cyperaceae) using nrDNA ITS and ETS sequence data [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 243: 175—187

Rohwer JG, Li J, Rudolph B *et al.*, 2009. Is *Persea* (Lauraceae) monophyletic? - Evidence from nuclear ribosomal ITS sequences [J]. *Taxon* (In press)

Swofford DL, 2001. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 4.0b10. Sunderland: Sinauer

Tang GG (**汤庚国**), Xiang QB (**向其柏**), 1995. Pollen morphology of the family Lauraceae in China [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (**植物分类学报**), 33 (2): 161—170

Thompson JD, Gibson TG, Plewniak F *et al.*, 1997. The ClustalX-windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acid Research*, 25: 4876—4882

van der Werff H, 2001. An annotated key to the genera of Lauraceae in the flora Malesiana region [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 46: 125—140

Wang YG (**王玉国**), Wei FN (**韦发南**), 2003. Comparative study of pollen morphology in *Machilus* and its related genus *Phoebe* under SEM [J]. *Guihaia* (**广西植物**), 23 (1): 27—30

Wei FN (**韦发南**), Wang YG (**王玉国**), He SQ (**何顺清**), 2001. A taxonomic revision on some species of *Machilus* Nees (Lauraceae) from China [J]. *Guihaia* (**广西植物**), 21 (3): 191—194

Wei FN (**韦发南**), Tang SC (**唐赛春**), 2006. On the circumscription of *Machilus* and of *Persea* (Lauraceae) [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (**植物分类学报**), 44 (4): 437—442

White TJ, Bruns TD, Lee SB *et al.*, 1990. Amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes and the internal transcribed spacer in fungi [A]. In: Innis MA, Gelfand GH, Sninsky JJ *et al.* (eds.). PCR-Protocols and Applications-A Laboratory Manual [M]. San Diego: Academic Press, 315—322

Zhuang XY (**庄雪影**), 1997. Study on HongKong species of *Machilus* Nees [J]. *Guihaia* (**广西植物**), 17 (4): 291—294